

# 瘤胃和牛奶中奇链支链脂肪酸含量与瘤胃微生物蛋白产量的相关性研究

刘鑫<sup>1,2</sup> 姜鑫<sup>1</sup> 徐宏建<sup>1</sup> 张淑枝<sup>3</sup> 管佳琦<sup>4</sup> 辛杭书<sup>1\*</sup>

(1.东北农业大学动物科学技术学院,哈尔滨 150030;2.扶余禾丰饲料有限公司,扶余 131200;

3.沈阳禾丰反刍动物饲料有限公司,沈阳 110164;4.沈阳农业大学动物科学与医学学院,沈阳 110161)

**摘要:** 本试验旨在探究瘤胃和牛奶中奇链支链脂肪酸(OBCFA)含量与瘤胃微生物蛋白(MCP)产量之间的相关关系。本试验选择3头安装永久性瘘管的荷斯坦泌乳奶牛[胎次=1胎;泌乳天数=(142.0±15.8) d;产奶量=(27.0±6.2) kg/d],采用3×3拉丁方试验设计,将3种剂量的碳酸氢铵(NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>) (0、112和224 g/d)进行瘤胃灌注,并测定瘤胃pH及挥发性脂肪酸(VFA)、氨态氮(NH<sub>3</sub>-N)、MCP和OBCFA含量,同时也测定了牛奶中的OBCFA含量。结果表明:随着NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>剂量的增加,瘤胃内*iso*-C14:0、*iso*-C17:0和总异构脂肪酸的含量显著增加( $P<0.05$ ),MCP含量趋于提高( $P=0.06$ );牛奶中*anteiso*-C15:0含量随NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>剂量的增加趋于提高( $P=0.07$ )。通过相关性分析发现,瘤胃中OBCFA含量与瘤胃pH及NH<sub>3</sub>-N、乙酸、丙酸、丁酸、异戊酸、戊酸和总挥发性脂肪酸含量均存在显著的相关关系( $r=0.26\sim0.64, P<0.05$ );牛奶中OBCFA含量与瘤胃pH及NH<sub>3</sub>-N、乙酸、丁酸和戊酸含量均存在显著的相关关系( $r=0.71\sim0.84, P<0.05$ );瘤胃MCP含量与瘤胃中*anteiso*-C15:0( $r=0.79$ )、*anteiso*-C17:0( $r=0.76$ )和总反异构脂肪酸含量( $r=0.84$ )呈显著正相关( $P<0.05$ ),且与牛奶中*anteiso*-C15:0含量( $r=0.78$ )呈显著正相关( $P<0.05$ )。综上所述,瘤胃和牛奶中OBCFA含量能够反映出瘤胃发酵参数的变化情况,且瘤胃中的*anteiso*-C15:0和*anteiso*-C17:0含量以及牛奶中的*anteiso*-C15:0含量具有作为标记物来预测瘤胃MCP含量的潜力。

**关键词:** 奇链支链脂肪酸;微生物蛋白;瘤胃发酵;相关关系

中图分类号:S823

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)10-5717-12

现阶段测定瘤胃微生物蛋白(MCP)方法很多,但多数会对动物造成不同程度的伤害,且成本较高,因此,不管是从学术角度出发,还是从应用实践方面考虑,都有必要研究出一种简单易行并对试验动物无损害的方法来估测反刍动物瘤胃中MCP含量。1962年,美国马里兰大学的学者Keeney等<sup>[1]</sup>首次提出,奇链支链脂肪酸(odd- and branched-chain fatty acids, OBCFA)主要来自于瘤胃微生物的合成,而非动物自身合成。OBCFA包

括奇数直链脂肪酸(OCFA)和支链脂肪酸(BCFA),支链脂肪酸主要是具有甲基支链的饱和脂肪酸,根据甲基位置不同,分为异构(*iso*)脂肪酸和反异构(*anteiso*)脂肪酸<sup>[2]</sup>。OBCFA主要包括:十四烷酸的异构体(*iso*-tetradecanoic acid, *iso*-C14:0)、十五烷酸(*pentadecanoic acid*, C15:0)、13-甲基十四烷酸(13-methyltetradecanoic acid, *iso*-C15:0)、12-甲基十四烷酸(12-methyltetradecanoic acid, *anteiso*-C15:0)、棕榈酸的异构体(*iso*-hexadecanoic

收稿日期:2021-03-18

基金项目:国家自然科学基金项目(31702135);国家现代农业产业技术体系

作者简介:刘鑫(1996—),女,黑龙江哈尔滨人,硕士研究生,从事反刍动物营养的研究。E-mail: 2293940318@qq.com

\*通信作者:辛杭书,教授,博士生导师,E-mail: hangshu.xin@neau.edu.cn

acid, *iso*-C16:0)、十七烷酸 (heptadecanoic acid, C17:0)、15-甲基棕榈酸 (15-methylhexadecanoic acid, *iso*-C17:0)、14-甲基棕榈酸 (14-methylhexadecanoic acid, *anteiso*-C17:0)。这些脂肪酸满足瘤胃微生物内部标记的大多数要求,因为它们稳定的化合物,通过非侵入性的手段在牛奶中容易获得,不影响动物福利,且易于测定。OBCFA 可随微生物物种变化而改变<sup>[3]</sup>,且在液相 (LAB) 和固相 (SAB) 细菌之间也存在差异<sup>[4]</sup>。与嘌呤/氮 (PB/N) 不同,LAB 和 SAB 之间的 OBCFA/蛋白质没有差异,这是将 OBCFA 作为瘤胃微生物内部标记的一个优势<sup>[5]</sup>。因此,OBCFA 很可能具备作为瘤胃微生物标记物的潜能。

2000 年,英国学者 Dewhurst 等<sup>[6]</sup>提出,可以通过动物产品中的 OBCFA 含量,对从瘤胃流出的微生物进行定量估测。随后 Vlaeminck 等<sup>[7]</sup>将 10 种常见的奶牛饲料分为 4 种类型,分别以其为底物经过体外发酵 21 h 后发现,随着饲料中淀粉含量的增加,发酵液中奇直链脂肪酸 (C15:0 和 C17:0) 在总 OBCFA 的比例也随之增加,而中性洗涤纤维 (NDF) 的含量与发酵液中的 *anteiso*-C15:0 含量呈显著的正相关关系,并且 OBCFA 含量与发酵液中的乙酸、丙酸和丁酸的摩尔比例也高度相关,其  $R^2$  值分别达到 79.6%、86.6% 和 84.9%;而后,研究者又进一步提出,基于多元线性回归发现瘤胃内的 pH 及氨态氮 ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) 含量和挥发酸 (VFA) 的摩尔比例与 OBCFA 含量密切相关,通过 OBCFA 含量能够反映瘤胃环境状况<sup>[8]</sup>,且与饲料组分比较,瘤胃中的 OBCFA 含量更能准确预测出瘤胃的发酵模式<sup>[9-10]</sup>。Vlaemick 等<sup>[7]</sup>建立了在牛奶和十二指肠中排泄的嘌呤碱 (PB) 和二氨基丙酸 (DAPA) 数量与 OBCFA 含量之间的关系,这些关系通过 Cabrita 等<sup>[11-12]</sup>描述的独立试验数据进行验证,发现基于乳 OBCFA 含量的预测比基于饲料的模型能更好地描述十二指肠 MCP 流量的变化<sup>[13]</sup>。而 Castro-Montoya 等<sup>[14]</sup>在荷斯坦奶牛的试验中,得出鸟嘌呤衍生物含量与牛奶 OBCFA 含量并不存在相关关系的结论。引起不同试验结果的原因尚不明确,所以,有学者提出,对于 OBCFA 从瘤胃转运到牛奶的途径,仍需要大量的研究工作<sup>[15]</sup>。

根据 Song 等<sup>[16]</sup>的研究发现,瘤胃灌注不同浓度的氨素能够显著影响瘤胃发酵模式以及 MCP

产量,也改变了进入十二指肠的微物流入量,而 OBCFA 主要来自于瘤胃微生物<sup>[1]</sup>,因此,氨素的摄入量也可以改变瘤胃及牛奶中 OBCFA 的产量。体外试验结果表明,OBCFA 含量与瘤胃微生物存在相关关系<sup>[17]</sup>,为进一步验证 OBCFA 含量与瘤胃 MCP 含量的相关性,需要进行体内试验。因此,本试验对奶牛瘤胃灌注不同剂量碳酸氢铵 ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ),旨在更加充分地评价 OBCFA 含量和瘤胃 MCP 含量的相关性,以期为 OBCFA 作为奶牛 MCP 标记物提供数据参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计和样品采集

本试验于 2019 年 10—12 月在黑龙江省双城市雀巢奶牛培训中心进行。采用 3×3 拉丁方试验设计,选择 3 头体况相近,且安装永久性瘤胃瘘管的荷斯坦泌乳奶牛 [胎次 = 1 胎;泌乳天数 = (142.0±15.8) d;产奶量 = (27.0±6.2) kg/d],进行瘤胃灌注试验。每期试验为 17 d,前 14 d 为适应期,后 3 d 为采样期,共 3 期。为避免铵根离子 ( $\text{NH}_4^+$ ) 对牛造成身体影响, $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  的灌注剂量不超过 224 g/d。适应期内,将 3 种剂量的  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (0、112 和 224 g/d) 分别溶解在 1.8 L 蒸馏水中,每天等量向奶牛瘤胃灌注 4 次,每次间隔 6 h。

奶牛分别在每天 07:00 和 14:00 饲喂等量的全混合日粮,其组成及营养水平见表 1,自由饮水。于每日 07:00、14:00 和 21:00 进行 3 次挤奶,每头牛每次取 3 个重复。根据早、中、晚 3 次的产奶量,将牛奶按照比例进行混合,共 27 个样本,于 -20 ℃ 保存,用于测定牛奶中 OBCFA 含量。

于采样期晨饲后 2、4、6、8、10 和 12 h 进行瘤胃液和瘤胃内容物采集,共 54 个样本。将瘤胃液经 4 层纱布过滤后,取 10 mL 进行 pH 测定,然后平均分装在 2 个 10 mL 离心管中,分别向每个离心管中加入 1 mL 25% 的偏磷酸,于 -20 ℃ 保存,用于测定 VFA 和  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量。然后,将 200 mL 瘤胃内容物进行冻干处理,用于 MCP 和 OBCFA 含量的测定。

### 1.2 瘤胃和牛奶中 OBCFA 含量的测定

1) 试剂和配制方法。10% 盐酸甲醇:将 10 mL 乙酰氯逐滴加入到 100 mL 甲醇中。6%  $\text{K}_2\text{CO}_3$  溶液:6 g  $\text{K}_2\text{CO}_3$  溶解于 100 mL 纯水中。气相色谱

内标溶液:0.2 g 十九烷酸溶于 100 mL 苯中,冷藏保存。

表 1 饲料组成及营养水平(风干基础)  
Table 1 Composition and nutrient levels of the diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
压片玉米 Steamed corn	12.04
玉米青贮 Corn silage	27.57
苜蓿 Alfalfa	20.50
酒糟 Brewers' s grains	4.28
全棉籽 Whole cottonseed	4.92
豆粕 Soybean meal	12.69
膨化大豆 Extruded soybean	1.00
麦麸 Wheat bran	12.50
预混料 Premix <sup>1)</sup>	4.50
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup>	
粗蛋白质 CP	17.31
中性洗涤纤维 NDF	31.14
酸性洗涤纤维 ADF	21.13
钙 Ca	1.83
磷 P	0.72
泌乳净能 NE <sub>L</sub> /(MJ/kg)	7.19

- 1) 每千克预混料含有 Contained the following per kilogram of the premix: VA 250 000 IU, VD 50 000 IU, VE 1 500 IU, Mn 2.25 g, Ca 120 g, Zn 7.7, P 20 g, Mg 20.5 g, Na 186 g, Fe 1.25 g, S 3 g, Co 14 mg, Cu 1.25 g, I 56 mg, Se 10 mg。
- 2) 泌乳净能为计算值,其余为实测值。NE<sub>L</sub> was a calculated value, while the others were measured values.

2) 分析方法。脂肪酸的提取和甲基化基于 Sukhija 等<sup>[18]</sup>描述的方法并加以改进。准确称量冻干样品 200 mg 置于 15 mL 离心管中。加入 1 mL 含有内标的苯,1 mL 苯和 3 mL 5% 盐酸甲醇。缓慢旋涡 1 min,使样品离管底 2~3 cm。70 ℃水浴 2 h 后,冷却至室温,并加入 5 mL 6% K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 2 mL 苯。中速漩涡 30 s 后于 1 500 r/min 离心 5 min,并将上部有机相转移至 5 mL EP 管中。向培养管中的苯提取物中加入 1 g 无水硫酸钠,再次涡旋 30 s 并静置 1 h。培养管于 1 500 r/min 离心 5 min,并将含有甲酯的上层转移到新的培养管中,用 N<sub>2</sub> 吹至近干,重新溶于 1 mL 苯中,所得溶液利用气相色谱仪(岛津 GC-2010)

测定 OBCFA 含量。

3) 气相色谱测定条件。使用 EquityTM-1 气相色谱柱(15 m×0.1 mm×0.1 μm);分析条件为:分流比为 200:1,进样口和检测器保持在 280 ℃。升温程序从 175 ℃开始,以 15 ℃/min 增加至 275 ℃,保持 1 min 来分离脂肪酸甲酯。气流:载气 氮气,45 cm/s;氢气,40 mL/min;空气,400 mL/min。通过将它们的保留时间与外标的保留时间进行比较来鉴定脂肪酸甲酯。

1.3 瘤胃发酵参数的测定

- 1.3.1 pH 的测定
- 取出瘤胃液后,立即用 Statious-10 pH 计测定 pH。
- 1.3.2 NH<sub>3</sub>-N 含量的测定
- 采用靛酚蓝法测定瘤胃液中 NH<sub>3</sub>-N 的含量<sup>[19]</sup>,测定仪器为紫外分光光度计(UV1901;波长:550 nm)。
- 1.3.3 VFA 含量的测定
- 参照 Stewart 等<sup>[20]</sup>描述的方法,采用气相色谱仪(岛津 GC-2010)测定瘤胃液中乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸和戊酸的含量。
- 1.3.4 MCP 含量的测定

瘤胃液中 MCP 含量根据 Zinn 等<sup>[21]</sup>报道的分光光度法进行测定,测定仪器为紫外分光光度计(UV1901;波长:260 nm)。

1.4 数据处理与分析

所有数据均采用 SAS 9.2 进行统计分析。使用 MIXED 模型对瘤胃发酵指标及 MCP、OBCFA 含量进行差异统计分析。*P*<0.05 代表差异显著,结果用平均值和标准误的形式表示。使用 PROC CORR 过程分析 OBCFA 含量与 pH 及 NH<sub>3</sub>-N、MCP 和 VFA 含量之间的关系,分析结果通过 Pearson 方法进行检验,*P*<0.10 表示趋于相关,*P*<0.05 表示显著相关。OBCFA 含量作为自变量数据集,MCP 含量和发酵参数数据作为变量数据集。多元回归分析利用 REG 过程的 STEPWISE 方法,得到的方程使用最小二乘法估计显著性(*P*<0.05)。

2 结果与分析

2.1 瘤胃灌注不同剂量的 NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 对瘤胃和牛奶中OBCFA 含量的影响

由表 2 可知,瘤胃灌注 NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 显著改变瘤胃内异构十四烷酸(iso-C14:0)、异构十七烷酸

(*iso*-C17:0) 和总异构脂肪酸 (total *iso*-fatty acids, TIFA) 的含量 ( $P<0.05$ ), 其中, *iso*-C14:0 和 TIFA 的含量随着  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  灌注剂量的升高呈现先降低后增加的变化, 而 *iso*-C17:0 的含量逐渐增加。其他脂肪酸含量并没有显著变化 ( $P>0.05$ )。

由表 3 可知, 牛奶中只有反异构十五烷酸 (*anteiso*-C15:0) 的含量随着  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  灌注剂量的升高有逐渐升高的趋势 ( $P=0.07$ ), 而其他脂肪酸含量并无显著变化 ( $P>0.05$ )。

表 2 瘤胃灌注不同剂量的  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  对瘤胃 OBCFA 含量的影响

Table 2 Effects of ruminal infusion of different doses  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  on ruminal OBCFA content g/kg DM

项目 Items	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> 灌注剂量 NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> infusion dose/( g/d)			SEM	P 值 P-value
	0	112	224		
异构十四烷酸 <i>iso</i> -C14:0	0.21	0.19	0.23	0.025	0.02
异构十五烷酸 <i>iso</i> -C15:0	0.17	0.15	0.16	0.017	0.65
反异构十五烷酸 <i>anteiso</i> -C15:0	0.78	0.69	0.68	0.069	0.14
十五烷酸 C15:0	0.69	0.62	0.69	0.054	0.11
异构十六烷酸 <i>iso</i> -C16:0	0.25	0.22	0.25	0.031	0.09
异构十七烷酸 <i>iso</i> -C17:0	0.17	0.18	0.20	0.011	0.05
反异构十七烷酸 <i>anteiso</i> -C17:0	0.35	0.38	0.40	0.047	0.33
十七烷酸 C17:0	0.34	0.29	0.31	0.159	0.16
总异构脂肪酸 TIFA <sup>1)</sup>	0.82	0.74	0.84	0.072	0.01
总反异构脂肪酸 TAFA <sup>2)</sup>	1.13	1.08	1.08	0.098	0.73
总支链脂肪酸 TBFA <sup>3)</sup>	1.94	1.81	0.73	0.123	0.29
总直链脂肪酸 TOFA <sup>4)</sup>	1.04	1.04	1.00	0.085	0.10
总奇链支链脂肪酸 TOBCFA <sup>5)</sup>	2.96	2.72	2.92	0.185	0.17

- 1) 总异构脂肪酸=异构十五烷酸+异构十六烷酸+异构十七烷酸。TIFA=*iso*-C15:0+*iso*-C16:0+*iso*-C17:0.
- 2) 总反异构脂肪酸=反异构十五烷酸+反异构十七烷酸。TAFA=*anteiso*-C15:0+*anteiso*-C17:0.
- 3) 总支链脂肪酸=异构十五烷酸+异构十六烷酸+异构十七烷酸+反异构十五烷酸+反异构十七烷酸。TBFA=*iso*-C15:0+*iso*-C16:0+*iso*-C17:0+*anteiso*-C15:0+*anteiso*-C17:0.
- 4) 总直链脂肪酸=十五烷酸+十七烷酸。TOFA=C15:0+C17:0.
- 5) 总奇链支链脂肪酸=异构十五烷酸+反异构十五烷酸+十五烷酸+异构十六烷酸+异构十七烷酸+反异构十七烷酸+十七烷酸 TOBCFA=*iso*-C15:0+*anteiso*-C15:0+C15:0+*iso*-C16:0+*iso*-C17:0+*anteiso*-C17:0+C17:0.
- 以上指标,表 3 同。Above indexes, the same as Table 3.

表 3 瘤胃灌注不同剂量的  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  对牛奶中 OBCFA 含量的影响

Table 3 Effects of ruminal infusion of different doses  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  on OBCFA content in milk g/kg DM

项目 Items	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> 灌注剂量 NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> infusion dose/( g/d)			SEM	P 值 P-value
	0	112	224		
异构十四烷酸 <i>Iso</i> -C14:0	0.38	0.33	0.27	0.059	0.35
异构十五烷酸 <i>Iso</i> -C15:0	0.27	0.19	0.33	0.100	0.49
反异构十五烷酸 <i>Anteiso</i> -C15:0	1.17	1.45	1.50	0.155	0.07
十五烷酸 C15:0	1.84	2.15	1.84	0.315	0.66
异构十六烷酸 <i>Iso</i> -C16:0	0.41	0.40	0.33	0.069	0.47
异构十七烷酸 <i>Iso</i> -C17:0	0.51	0.57	0.55	0.085	0.85
反异构十七烷酸 <i>Anteiso</i> -C17:0	1.27	1.52	1.69	0.216	0.38
十七烷酸 C17:0	0.80	0.92	0.88	0.192	0.90
总异构脂肪酸 TIFA	1.58	1.49	1.49	0.296	0.96
总反异构脂肪酸 TAFA	2.40	2.97	3.19	0.327	0.16
总支链脂肪酸 TBFA	4.18	4.45	4.67	0.457	0.72
总直链脂肪酸 TOFA	2.64	3.07	2.71	0.490	0.76
总奇链支链脂肪酸 TOBCFA	6.83	7.52	7.39	0.872	0.82



## 2.2 瘤胃灌注不同剂量的 $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ 对瘤胃发酵参数和 MCP 含量的影响

由表 4 可知,随着瘤胃灌注  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  剂量的

增加,MCP 的含量有逐渐增加的趋势( $P=0.06$ )。而其他发酵参数均未见显著变化( $P>0.05$ )。

表 4 瘤胃灌注不同剂量的  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  对瘤胃发酵参数和 MCP 含量的影响

项目 Items	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> 灌注剂量 NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> infusion dose/( g/d)			SEM	P 值 P-value
	0	112	224		
pH	5.93	5.74	5.70	0.199	0.52
氨态氮 NH <sub>3</sub> -N/( mg/dL)	17.25	23.14	17.61	3.761	0.31
总挥发性脂肪酸 TVFA/( mmol/L)	126.57	148.78	152.59	12.810	0.12
乙酸 Acetate/%	61.36	60.80	60.82	1.610	0.92
丙酸 Propionate/%	22.67	22.83	22.72	0.505	0.97
异丁酸 Isobutyrate/%	0.40	0.45	0.45	0.072	0.77
丁酸 Butyrate/%	12.22	12.61	12.85	1.032	0.90
异戊酸 Isovalerate/%	2.01	1.79	1.65	0.390	0.51
戊酸 Valerate/%	1.34	1.52	1.51	0.097	0.74
乙酸/丙酸 A/P	2.71	2.66	2.68	0.101	0.69
微生物蛋白 MCP/( g/kg DM)	232.37	240.66	264.62	24.823	0.06

## 2.3 瘤胃和牛奶中 OBCFA 含量与瘤胃发酵参数及瘤胃 MCP 含量的相关关系

由表 5 可知,瘤胃中 OBCFA 含量与瘤胃发酵参数及 MCP 含量存在显著的相关关系( $r=0.26\sim 0.84$ ;  $P<0.05$ )。且较强相关关系存在于乙酸与 C15:0( $r=0.60$ )、*iso*-C17:0( $r=0.52$ )及 TOFA 含量( $r=-0.52$ );丙酸与 C15:0( $r=0.51$ )、*iso*-C16:0( $r=-0.60$ )、*iso*-C17:0( $r=-0.52$ )、TIFA( $r=-0.64$ )和 OBCFA 含量( $r=-0.52$ );丁酸与 C15:0( $r=-0.53$ )和 C17:0 含量( $r=-0.58$ );异戊酸与 *anteiso*-C17:0 含量( $r=0.53$ );乙酸/丙酸与 C15:0( $r=0.57$ )、*iso*-C16:0( $r=-0.52$ )、*iso*-C17:0( $r=0.54$ )、TIFA( $r=0.64$ )、TOFA( $r=0.55$ )及 OBCFA 含量( $r=0.52$ );MCP 与 *anteiso*-C15:0( $r=0.79$ )、*anteiso*-C17:0( $r=0.76$ )和 TAFA 含量( $r=0.84$ )。

由表 6 可知,牛奶中 OBCFA 含量与瘤胃发酵参数及 MCP 含量存在显著的相关关系( $r=0.11\sim 0.89$ ;  $P<0.05$ )。且较强相关关系存在于 pH 与 *anteiso*-C17:0( $r=-0.76$ )和 TAFA 含量( $r=-0.73$ ); $\text{NH}_3\text{-N}$  与 *iso*-C17:0( $r=0.71$ )、C17:0( $r=0.84$ )和 TBFA( $r=0.84$ )和 TOBCFA 含量( $r=0.84$ );乙酸与 *anteiso*-C15:0( $r=-0.89$ )、TAFA( $r=-0.81$ )和 TBFA 含量( $r=-0.76$ );丁酸与 *anteiso*-C15:0( $r=0.76$ )、*anteiso*-C17:0( $r=0.71$ )、TAFA( $r=-0.76$ )、TBFA( $r=0.81$ )和 TOBCFA 含量( $r=0.71$ );戊酸与 *anteiso*-C15:0( $r=0.72$ )和 TAFA 含量( $r=-0.75$ );乙酸/丙酸与 *anteiso*-C15:0 含量( $r=$

$-0.76$ );MCP 与 *anteiso*-C15:0 含量( $r=0.78$ )。

利用瘤胃和牛奶中 OBCFA 含量建立瘤胃发酵参数和 MCP 含量的预测方程如表 7 所示。预测方程经最小二乘法估计发现均在显著水平( $P<0.05$ ),除异丁酸和戊酸含量外,其他各种 VFA 含量预测方程的  $R^2$  值相近。利用瘤胃中 OBCFA 含量预测乙酸、丙酸和丁酸含量的  $R^2$  分别为 0.56、0.47和 0.42,而利用牛奶中 OBCFA 含量预测乙酸和丁酸含量的  $R^2$  分别为 0.79 和 0.58。利用瘤胃和牛奶中 OBCFA 含量预测 MCP 含量,回归方程的  $R^2$  分别为 0.96 和 0.60。

## 3 讨 论

本试验中随着  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  剂量的增加,瘤胃中 *iso*-C17:0 的含量有逐渐增加的趋势,但牛奶中的含量并没有显著变化,这与脂肪酸在乳腺中的重新合成有关。而 Cabrita 等<sup>[11]</sup>研究显示,随尿素替代比例增为 1%,饲料中真蛋白的含量降低,牛奶中 *iso*-C17:0 的含量减少,与本试验结果存在差异的原因可能是饲料结构导致的。OBCFA 主要存在于微生物的细胞膜上<sup>[2]</sup>,因此,OBCFA 含量的变化可以在一定程度上反映出瘤胃微生物的变化。本研究发现,向瘤胃中灌注高剂量的  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  时,显著改变了牛奶中 TIFA 的含量,尤其是 *iso*-C14:0 和 *iso*-C17:0 的含量,这说明氮素供给的增加,可能与瘤胃中携带异构脂肪酸的微生物的增长有某种关联,但具体机制尚不清楚,需要进一步的深入研究。

表 5 瘤胃中 OBCFA 含量与发酵参数和 MCP 含量的相关关系

Table 5 Correlation between ruminal OBCFA content and fermentation parameters and MCP content

项目 Items	pH	氨态氮 NH <sub>3</sub> -N	乙酸 Acetate	丙酸 Propionate	异丁酸 Isobutyrate	丁酸 Butyrate	异戊酸 Isovalerate	戊酸 Valerate	乙酸/ 丙酸 A/P	总挥发性 脂肪酸 TVFA	微生物 蛋白 MCP
异构十四烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.36	0.43	-0.43	0.21	-0.38	0.02	-0.16	0.46	-0.17	0.16
<i>Iso</i> -C14:0	<i>P</i> 值	0.01	<0.01	<0.01	0.11	<0.01	0.91	0.25	<0.01	0.21	0.71
异构十五烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.33	0.43	-0.26	0.24	-0.44	-0.00	-0.16	0.34	-0.29	-0.52
<i>Iso</i> -C15:0	<i>P</i> 值	0.01	<0.01	0.05	0.08	<0.01	0.98	0.23	0.01	0.03	0.19
反异构十五烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.15	0.12	-0.25	0.01	-0.12	0.35	0.05	0.21	0.14	0.79
<i>Anteiso</i> -C15:0	<i>P</i> 值	0.27	0.39	0.07	0.97	0.39	0.01	0.74	0.11	0.32	0.02
十五烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.48	0.60	-0.51	0.19	-0.53	0.14	-0.29	0.57	-0.29	0.42
C15:0	<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	<0.01	0.17	<0.01	0.30	0.03	<0.01	0.03	0.30
异构十六烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.26	0.35	-0.60	0.31	-0.18	0.40	-0.27	0.52	-0.09	0.42
<i>Iso</i> -C16:0	<i>P</i> 值	0.06	0.01	<0.01	0.02	0.19	0.00	0.05	<0.01	0.51	0.30
异构十七烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.48	0.52	-0.52	0.12	-0.41	0.17	-0.10	0.54	-0.16	-0.14
<i>Iso</i> -C17:0	<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	<0.01	0.36	<0.01	0.22	0.47	<0.01	0.24	0.75
反异构十七烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.22	-0.05	-0.20	0.06	0.02	0.53	0.04	0.11	0.04	0.76
<i>Anteiso</i> -C17:0	<i>P</i> 值	0.11	0.74	0.14	0.68	0.91	<0.01	0.75	0.42	0.76	0.03
十七烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.41	0.49	-0.35	0.16	-0.58	0.33	-0.31	0.42	-0.29	0.43
C17:0	<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	0.01	0.24	<0.01	0.01	0.02	<0.01	0.03	0.28
总异构脂肪酸	相关系数 <i>r</i>	0.47	0.60	-0.64	0.32	-0.46	0.22	-0.25	0.64	-0.23	0.11
TIFA	<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	<0.01	0.02	<0.01	0.10	0.06	<0.01	0.09	0.79
总反异构脂肪酸	相关系数 <i>r</i>	0.21	0.07	-0.27	0.03	-0.08	0.49	0.05	0.21	0.12	0.84
TAFA	<i>P</i> 值	0.13	0.62	0.04	0.84	0.56	<0.01	0.70	0.12	0.37	0.01
总支链脂肪酸	相关系数 <i>r</i>	0.37	0.33	-0.49	0.17	-0.27	0.45	-0.08	0.45	-0.02	0.62
TBFA	<i>P</i> 值	<0.01	0.01	<0.01	0.21	0.04	<0.01	0.56	<0.01	0.88	0.10
总直链脂肪酸	相关系数 <i>r</i>	0.49	0.60	-0.49	0.19	-0.58	0.22	-0.32	0.55	-0.31	0.44
TOFA	<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	<0.01	0.16	<0.01	0.10	0.02	<0.01	0.02	0.28
总奇链支链脂肪酸	相关系数 <i>r</i>	0.44	0.46	-0.52	0.19	-0.42	0.38	-0.19	0.52	-0.15	0.58
TOBCFA	<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	<0.01	0.17	<0.01	0.00	0.16	<0.01	0.28	0.13

表 6 牛奶中 OBCFA 含量与发酵参数和 MCP 含量的相关关系

Table 6 Correlation between milk OBCFA content and fermentation parameters and MCP content

项目 Items	pH	氨态氮 NH <sub>3</sub> -N	乙酸 Acetate	丙酸 Propionate	异丁酸 Isobutyrate	丁酸 Butyrate	异戊酸 Isovalerate	戊酸 Valerate	乙酸/丙酸 A/P	总挥发性 脂肪酸 TVFA	微生物 蛋白 MCP
异构十四烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.25	-0.02	-0.46	0.25	0.01	0.55	-0.44	0.24	0.004	0.14
<i>Iso</i> -C14:0	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.54	0.96	0.25	0.55	0.99	0.16	0.28	0.57	0.99	0.74
异构十五烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.66	-0.03	-0.68	0.48	0.28	0.11	0.08	0.33	0.13	0.15
<i>Iso</i> -C15:0	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.07	0.94	0.07	0.23	0.51	0.79	0.86	0.42	0.76	0.72
反异构十五烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.46	-0.89	0.40	-0.30	0.76	0.36	0.72	-0.76	0.58	0.78
<i>Anteiso</i> -C15:0	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.26	0.00	0.33	0.47	0.03	0.38	0.05	0.03	0.13	0.02
十五烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.55	-0.16	-0.51	0.48	0.35	0.13	0.07	0.21	0.19	0.44
C15:0	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.16	0.71	0.19	0.23	0.39	0.76	0.86	0.62	0.65	0.28
异构十六烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.27	-0.49	-0.01	0.10	0.37	0.58	-0.11	-0.30	0.11	0.25
<i>Iso</i> -C16:0	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.51	0.22	0.98	0.82	0.37	0.13	0.79	0.47	0.79	0.55
异构十七烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.71	-0.19	-0.60	0.45	0.45	0.05	0.30	0.24	0.36	0.42
<i>Iso</i> -C17:0	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.05	0.66	0.11	0.27	0.26	0.90	0.47	0.57	0.39	0.30
反异构十七烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.67	-0.69	0.08	0.13	0.71	0.19	0.73	-0.47	0.40	0.57
<i>Anteiso</i> -C17:0	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.07	0.06	0.85	0.75	0.05	0.65	0.04	0.24	0.33	0.14
十七烷酸	相关系数 <i>r</i>	0.84	-0.52	-0.48	0.26	0.66	0.43	0.37	-0.04	0.55	0.05
C17:0	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.01	0.19	0.23	0.53	0.07	0.29	0.37	0.92	0.16	0.99
总异构脂肪酸	相关系数 <i>r</i>	0.66	-0.22	-0.60	0.44	0.37	0.37	-0.01	0.19	0.21	-0.16
TIFA	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.08	0.60	0.11	0.27	0.36	0.37	0.98	0.65	0.63	0.70
总反异构脂肪酸	相关系数 <i>r</i>	0.60	-0.81	0.23	-0.06	0.76	0.28	0.75	-0.62	0.50	0.69
TAFA	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.12	0.02	0.59	0.88	0.03	0.51	0.03	0.10	0.21	0.06
总支链脂肪酸	相关系数 <i>r</i>	0.84	-0.76	-0.15	0.19	0.81	0.42	0.59	-0.39	0.51	0.45
TBFA	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.01	0.03	0.72	0.64	0.01	0.30	0.12	0.34	0.20	0.26
总直链脂肪酸	相关系数 <i>r</i>	0.68	-0.30	-0.52	0.41	0.48	0.25	0.19	0.12	0.33	-0.29
TOFA	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.06	0.47	0.19	0.31	0.22	0.55	0.66	0.78	0.42	0.49
总奇链支链脂肪酸	相关系数 <i>r</i>	0.84	-0.58	-0.38	0.34	0.71	0.37	0.42	-0.14	0.46	0.08
TOBCFA	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.01	0.13	0.35	0.41	0.05	0.37	0.29	0.74	0.25	0.85

表 7 利用瘤胃和牛奶中 OBCFA 含量建立瘤胃发酵参数和 MCP 含量的预测方程  
Table 7 Equations to predict ruminal fermentation parameters and MCP content using OBCFA content in rumen and milk

变量	预测方程	均方根误差	决定系数	校正决定系数	P 值
Dependent variables	Prediction equations	RMSE	R <sup>2</sup>	Adj R <sup>2</sup>	P-value
瘤胃 Rumen					
pH	$Y = 5.37 - 0.72 \text{ anteiso-C15 :0} + 1.55 \text{ C15 :0}$	0.27	0.30	0.28	<0.01
氨态氮 NH <sub>3</sub> -N	$Y = 23.65 - 20.09 \text{ C17 :0}$	5.79	0.08	0.07	0.03
乙酸 Acetate	$Y = 563.59 - 86.79 \text{ anteiso-C15 :0} + 160.19 \text{ C15 :0}$	15.86	0.56	0.54	<0.01
丙酸 Propionate	$Y = 275.18 - 98.69 \text{ iso-C16 :0} - 131.13 \text{ iso-C17 :0}$	10.06	0.47	0.45	<0.01
异丁酸 Isobutyrate	$Y = 3.05 + 5.64 \text{ iso-C16 :0}$	1.15	0.10	0.08	0.02
丁酸 Butyrate	$Y = 167.29 - 100.45 \text{ iso-C15 :0} - 84.63 \text{ C17 :0}$	11.40	0.42	0.40	<0.01
异戊酸 Isovalerate	$Y = 0.75 + 25.02 \text{ iso-C16 :0} + 28.94 \text{ anteiso-C17 :0}$	5.44	0.33	0.31	<0.01
戊酸 Valerate	$Y = 16.69 - 5.63 \text{ C17 :0}$	1.48	0.10	0.08	0.02
总挥发性脂肪酸 TVFA	$Y = 156.27 + 80.70 \text{ anteiso-C15 :0} - 101.97 \text{ C17 :0}$	16.51	0.33	0.30	<0.01
微生物蛋白 MCP	$Y = 168.14 - 803.67 \text{ iso-C14 :0} + 267.84 \text{ anteiso-C15 :0} + 211.40 \text{ anteiso-C17 :0}$	9.20	0.96	0.93	<0.01
牛奶 Milk					
pH	$Y = 6.58 - 0.45 \text{ anteiso-C17 :0}$	0.11	0.57	0.50	0.03
氨态氮 NH <sub>3</sub> -N	$Y = 10.14 + 8.40 \text{ C17 :0}$	1.36	0.71	0.66	<0.01
乙酸 Acetate	$Y = 701.39 - 64.44 \text{ anteiso-C15 :0}$	7.76	0.79	0.75	<0.01
丁酸 Butyrate	$Y = 65.24 + 42.24 \text{ anteiso-C15 :0}$	8.27	0.58	0.51	0.03
戊酸 Valerate	$Y = 10.90 + 2.66 \text{ anteiso-C17 :0}$	0.71	0.54	0.46	0.04
微生物蛋白 MCP	$Y = 75.74 + 123.51 \text{ anteiso-C15 :0}$	23.03	0.60	0.54	0.02



研究发现,瘤胃微生物对  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量耐受范围为  $6\sim 30\text{ mg/mL}$ <sup>[1]</sup>,若  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量过低,瘤胃发酵的“解偶联”会导致 MCP 合成效率下降<sup>[22]</sup>。本试验中,随  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  灌注剂量的增加,奶牛瘤胃  $\text{NH}_3\text{-N}$  含量升高并均处于正常范围内,说明  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  的灌注能够在不影响瘤胃功能的前提下,为瘤胃微生物提供更多的氮源。此外,尽管本研究中各个 VFA 的含量未因  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  的灌注剂量不同而发生明显变化,但随  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  灌注剂量升高,TVFA 含量呈上升趋势。这可能是由于  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  的灌注促进了瘤胃微生物的活动,进而促进碳水化合物降解,最终导致更高的 VFA 含量。更高的 VFA 含量能够为微生物活动提供更多的能量<sup>[23]</sup>。因此, $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  的灌注为瘤胃微生物合成 MCP 提供了充足的能量和氮源,这也是本试验中瘤胃 MCP 含量随  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  灌注剂量增加而增加的原因。

本研究中,瘤胃内的异构脂肪酸含量与 pH 之间存在正相关,这是可以预料的,因为纤维分解菌中富含异构脂肪酸<sup>[24]</sup>,pH 偏低时会对纤维分解菌产生负面影响<sup>[25]</sup>,因此 pH 降低会减少瘤胃内的异构脂肪酸含量。Zhang 等<sup>[26]</sup>研究发现,OBCFA 和乙酸含量之间存在正相关,但与丙酸和丁酸含量之间存在负相关,可能与游离形式存在的 VFA 在瘤胃壁的吸收率不同(丙酸>乙酸)所致<sup>[27]</sup>,本研究也发现了类似的现象。同样,Vlaeminck 等<sup>[8]</sup>建立的预测方程经过有效性检验,认为牛奶乳脂中的 OBCFA 含量可以估测瘤胃中 VFA 的含量。

MCP 是奶牛代谢蛋白供应的主要成分,而 OBCFA 是瘤胃微生物细胞膜的独有成分<sup>[28]</sup>。本试验数据表明,MCP 含量与 *anteiso*-C15:0 和 *anteiso*-C17:0 的含量均存在较强的正相关关系,可能与瘤胃内发酵糖和肽类物质的细菌(如普雷沃氏菌、多毛毛螺菌和溶糊精琥珀酸弧菌)多含反异构脂肪酸有关,例如,普雷沃氏菌中的 *anteiso*-C15:0 含量可达到  $3.67\text{ g/kg}$  脂肪酸<sup>[24]</sup>。此外,线性回归分析显示利用 *anteiso*-C15:0 和 *anteiso*-C17:0 含量来预测 MCP 含量的  $R^2$  较高,这一结果表明,用此 2 种脂肪酸可预测瘤胃 MCP 含量。同时,也有研究表明,OBCFA 含量预测 MCP 含量的变化具有稳健性,且固相和液相相关细菌中的 OBCFA:N 比例相对恒定<sup>[4]</sup>,这也意味着瘤胃中 OBCFA 作为预测微生物产量的标记物具有很大

的潜力。

然而,关于是否可以利用牛奶中 OBCFA 的含量来预测 MCP 含量,学术界存在不同看法。Vlaeminck 等<sup>[13]</sup>认为,用牛奶中的 OBCFA 含量之所以可作为 MCP 的潜在生物标志物,是由于牛奶中 OBCFA 和十二指肠微生物中的二氨基庚二酸以及嘌呤碱基含量之间存在正相关关系。然而,De-whurst 等<sup>[22]</sup>发现奶中 OBCFA 和十二指肠微生物中的嘌呤碱基含量之间没有任何关系。随后 Castro-Montoya 等<sup>[29]</sup>为探索 OBCFA 作为瘤胃 MCP 潜在生物标志物的可行性,研究了尿液中嘌呤和氮浓度与牛奶中 OBCFA 比例和含量之间的相关关系,结果显示,牛奶中 OBCFA 的比例和含量与通常用作瘤胃 MCP 含量指标的尿液参数之间没有密切关系。难以确定牛奶中 OBCFA 含量与瘤胃 MCP 含量之间的定量关系可能是由于<sup>[30-31]</sup>:1) 各种 OBCFA 肠道吸收效率的差异;2) OBCFA 运输到血液中的“模式”不同;3) 某些 OBCFA 会在乳腺或其他组织中重新合成;4) 脂肪组织中会储存一些 OBCFA,并且其会在脂肪动员期间得到释放;5) 从瘤胃流向十二指肠时,OBCFA 转移到牛奶中的比例降低。Westreicher-Kristen 等<sup>[32]</sup>提出通过牛奶中单个或全部 OBCFA 含量只能适度地预测 MCP 的合成,很可能是 OBCFA 在流入牛奶的过程中发生了转移或者微生物群落组成发生变化所致。本研究利用 OBCFA 在多元线性回归的基础上预测 MCP 含量,从当前结果来看,并非所有的 OBCFA 都是 MCP 含量的可靠或准确的预测指标,可能是单个脂肪酸的反应比一组脂肪酸更为敏感,在一个组内会发生某些拮抗作用,这意味着一个特定脂肪酸含量的增加可能与其他具有相似结构的脂肪酸含量的减少有关,从而抵消了某些 OBCFA 的预测能力。根据本试验结果所展现的 *anteiso*-C15:0 与 MCP 含量之间的相关关系,我们可以认为,作为非侵入性预测 MCP 含量的方法,利用牛奶中 OBCFA 含量仍是一种有潜力的途径,但要提高预测的准确性,未来仍然需要大量的深入研究,以阐明瘤胃中 OBCFA 含量与牛奶中 OBCFA 含量的准确关系。

## 4 结 论

瘤胃灌注高剂量  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  能够显著增加瘤胃内 *iso*-C14:0 和 *iso*-C17:0 和总异构脂肪酸的含

量,同时瘤胃 MCP 的含量也随之趋于提高。此外,瘤胃中的 *anteiso*-C15:0 和 *anteiso*-C17:0 以及牛奶中的 *anteiso*-C15:0 与 MCP 含量呈显著正相关,因而它们具有作为标记物预测瘤胃 MCP 含量的潜力。

## 参考文献:

- [ 1 ] KEENEY M, KATZ I, ALLISON M J. On the probable origin of some milk fat acids in rumen microbial lipids [ J ]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1962, 39 ( 4 ) : 198–201.
- [ 2 ] KANEDA T. Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance [ J ]. *Microbiological Reviews*, 1991, 55 ( 2 ) : 288–302.
- [ 3 ] VLAEMINCK B, FIEVEZ V, CABRITA A R J, et al. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: a review [ J ]. *Animal Feed Science and Technology*, 2006, 131 ( 3/4 ) : 389–417.
- [ 4 ] VLAEMINCK B, FIEVEZ V, DEMEYER D, et al. Effect of forage:concentrate ratio on fatty acid composition of rumen bacteria isolated from ruminal and duodenal digesta [ J ]. *Journal of Dairy Science*, 2006, 89 ( 7 ) : 2668–2678.
- [ 5 ] BESSA R J B, MAIA M R G, JERÓNIMO E, et al. Using microbial fatty acids to improve understanding of the contribution of solid associated bacteria to microbial mass in the rumen [ J ]. *Animal Feed Science and Technology*, 2009, 150 ( 3/4 ) : 197–206.
- [ 6 ] DEWHURST R J, DAVIES D R, MERRY R J. Microbial protein supply from the rumen [ J ]. *Animal Feed Science and Technology*, 2000, 85 ( 1/2 ) : 1–21.
- [ 7 ] VLAEMINCK B, FIEVEZ V, VAN LAAR H, et al. Rumen odd and branched chain fatty acids in relation to *in vitro* rumen volatile fatty acid productions and dietary characteristics of incubated substrates [ J ]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2004, 88 ( 11/12 ) : 401–411.
- [ 8 ] VLAEMINCK B, FIEVEZ V, TAMMINGA S, et al. Milk odd- and branched-chain fatty acids in relation to the rumen fermentation pattern [ J ]. *Journal of Dairy Science*, 2006, 89 ( 10 ) : 3954–3964.
- [ 9 ] VAZIRIGOHAR M, DEHGHAN-BANADAKY M, REZAYAZDI K, et al. Short communication: effects of diets containing supplemental fats on ruminal fermentation and milk odd- and branched-chain fatty acids in dairy cows [ J ]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101 ( 7 ) : 6133–6141.
- [ 10 ] PRADO L A, SCHMIDELY P, NOZIÈRE P, et al. Milk saturated fatty acids, odd- and branched-chain fatty acids, and isomers of C18 : 1, C18 : 2, and C18 : 3n-3 according to their duodenal flows in dairy cows: a meta-analysis approach [ J ]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102 ( 4 ) : 3053–3070.
- [ 11 ] CABRITA A R J, FONSECA A J M, DEWHURST R J, et al. Nitrogen supplementation of corn silages. 2. Assessing rumen function using fatty acid profiles of bovine milk [ J ]. *Journal of Dairy Science*, 2003, 86 ( 12 ) : 4020–4032.
- [ 12 ] CABRITA A R J, FONSECA A J M, DEWHURST R J, et al. Nitrogen supplementation of corn silages. 1. Effects on feed intake and milk production of dairy cows [ J ]. *Journal of Dairy Science*, 2003, 86 ( 12 ) : 4008–4019.
- [ 13 ] VLAEMINCK B, DUFOUR C, VAN VUUREN A M, et al. Use of odd and branched-chain fatty acids in rumen contents and milk as a potential microbial marker [ J ]. *Journal of Dairy Science*, 2005, 88 ( 3 ) : 1031–1042.
- [ 14 ] CASTRO-MONTOYA J, HENKE A, MOLKENTIN J, et al. Relationship between milk odd and branched-chain fatty acids and urinary purine derivatives in dairy cows supplemented with quebracho tannins—a study to test milk fatty acids as predictors of rumen microbial protein synthesis [ J ]. *Animal Feed Science and Technology*, 2016, 214 : 22–33.
- [ 15 ] FIEVEZ V, COLMAN E, CASTRO-MONTOYA J M, et al. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function—an update [ J ]. *Animal Feed Science and Technology*, 2012, 172 ( 1/2 ) : 51–65.
- [ 16 ] SONG M K, KENNELLY J J. *In situ* degradation of feed ingredients, fermentation pattern and microbial population as influenced by ruminal ammonia concentration [ J ]. *Canadian Journal of Animal Science*, 1989, 69 ( 4 ) : 999–1006.
- [ 17 ] 刘鑫, 么恩悦, 郑健. 利用体外培养法研究奶牛瘤胃中奇链支链脂肪酸与微生物菌群的相关性 [ J ]. *中国兽医学报*, 2020, 40 ( 2 ) : 393–399, 404.
- LIU X, YAO E Y, ZHENG J. Correlation between the odd- and branched-chain fatty acids and rumen microorganisms of dairy cows *in vitro* [ J ]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2020, 40 ( 2 ) : 393–399, 404. ( in Chinese )

- [18] SUKHIJA P S, PALMQUIST D L. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1988, 36(6): 1202–1206.
- [19] NOVAMSKY I, VAN ECK R, VAN SCHOUWENBURG C, et al. Total nitrogen determination in plant material by means of the indophenol-blue method[J]. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 1974, 22(1): 3–5.
- [20] STEWART C S, DUNCAN S H. The effect of avoparcin on cellulolytic bacteria of the ovine rumen[J]. *Microbiology*, 1985, 131(3): 427–435.
- [21] ZINN R A, OWENS F N. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis[J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 1986, 66(1): 157–166.
- [22] DEWHURST R J, MOORBY J M, VLAEMINCK B, et al. Apparent recovery of duodenal odd- and branched-chain fatty acids in milk of dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(4): 1775–1780.
- [23] JIANG X, LIU X, LIU S, et al. Growth, rumen fermentation and plasma metabolites of Holstein male calves fed fermented corn gluten meal during the post-weaning stage[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2019, 249: 1–9.
- [24] 刘可园. 奇数和支链脂肪酸与奶牛瘤胃微生物及其发酵指标的关系[D]. 博士学位论文. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
- LIU K Y. Relationship between odd and branched chain fatty acids and rumen microorganisms and fermentation indexes in dairy cows[D]. Ph. D. Thesis. Harbin: Northeast Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [25] RUSSELL J B, WILSON D B. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? [J]. *Journal of Dairy Science*, 1996, 79(8): 1503–1509.
- [26] ZHANG Y, LIU K, HAO X, et al. The relationships between odd- and branched-chain fatty acids to ruminal fermentation parameters and bacterial populations with different dietary ratios of forage and concentrate [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2017, 101(6): 1103–1114.
- [27] WALTER A, GUTKNECHT J. Permeability of small nonelectrolytes through lipid bilayer membranes [J]. *The Journal of Membrane Biology*, 1986, 90(3): 207–217.
- [28] HARFOOT C G. Lipid metabolism in the rumen [J]. *Progress in Lipid Research*, 1978, 17(1): 21–54.
- [29] CASTRO-MONTOYA J, WESTREICHER-KRISTEN E, HENKE A, et al. *In vitro* microbial protein synthesis, ruminal degradation and post-ruminal digestibility of crude protein of dairy rations containing quebracho tannin extract [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102(1): e77–e86.
- [30] VLAEMINCK B, GERVAIS R, RAHMAN M M, et al. Postruminal synthesis modifies the odd- and branched-chain fatty acid profile from the duodenum to milk [J]. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98(7): 4829–4840.
- [31] CHILLIARD Y, FERLAY A, MANSBRIDGE R M, et al. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids [J]. *Annales De Zootechnie*, 2000, 49(3): 181–205.
- [32] WESTREICHER-KRISTEN E, CASTRO-MONTOYA J, HASLER M, et al. Relationship of milk odd- and branched-chain fatty acids with urine parameters and ruminal microbial protein synthesis in dairy cows fed different proportions of maize silage and red clover silage [J]. *Animals*, 2020, 10(2): 316.

## Correlation between Content of Odd- and Branched-Chain Fatty Acids in Rumen and Milk and Production of Microbial Protein in Rumen

LIU Xin<sup>1,2</sup> JIANG Xin<sup>1</sup> XU Hongjian<sup>1</sup> ZHANG Shuzhi<sup>3</sup> GUAN Jiaqi<sup>4</sup> XIN Hangshu<sup>1\*</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Fuyu Hefeng Feed Co., Ltd., Fuyu 131200, China; 3. Shenyang Hefeng Ruminant Feed Co., Ltd., Shenyang 110164, China; 4. College of Animal Science and Medicine, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to explore correlation between odd-chain branched fatty acid (OBCFA) content and rumen microbial protein (MCP) production in rumen and milk. Three Holstein lactating cows [parity=1; lactation days=(142.0±15.8) d; milk yield=(27.0±6.2) kg/d] with permanent fistulas were selected in the present experiment. The 3×3 Latin square test design was used to infuse three doses of  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (0, 112 and 224 g/d) into the rumen. The pH, volatile fatty acids (VFA), ammonia nitrogen ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ), MCP, OBCFA contents in rumen, and OBCFA content in milk were measured. The results showed that with the increase of  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  dose, the contents of *iso*-C14:0, *iso*-C17:0 and total isomeric fatty acids in rumen were significantly increased ( $P<0.05$ ), and the MCP content tended to be increased ( $P=0.06$ ); the content of *anteiso*-C15:0 tended to increase with the increase of  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  dose ( $P=0.07$ ). By correlation analysis, it was found that the OBCFA content in rumen were related to ruminal pH,  $\text{NH}_3\text{-N}$ , acetate, propionate, butyrate, isovalerate, valerate and TVFA contents ( $r=0.26$  to  $0.64$ ,  $P<0.05$ ); the OBCFA content in milk were related to rumen pH,  $\text{NH}_3\text{-N}$ , acetate, butyrate and valerate contents ( $r=0.71$  to  $0.84$ ,  $P<0.05$ ); the ruminal MCP content was positively correlated with *anteiso*-C15:0 ( $r=0.79$ ), *anteiso*-C17:0 ( $r=0.76$ ) and TAFA ( $r=0.84$ ) contents in the rumen ( $P<0.05$ ), and there was a significant positive correlation with *anteiso*-C15:0 ( $r=0.78$ ) content in milk ( $P<0.05$ ). In summary, OBCFA content in the rumen and milk can reflect changes in rumen fermentation parameters, and *anteiso*-C15:0 and *anteiso*-C17:0 contents in the rumen and *anteiso*-C15:0 content in milk can be used as markers to predict the ruminal MCP content. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2021, 33(10):5717-5728]

**Key words:** OBCFA; MCP; rumen fermentation; correlation

\* Corresponding author, professor, E-mail: hangshu.xin@neau.edu.cn